

博士学位論文

学位論文内容の要旨および審査結果の要旨

氏 名 和田 聡

学 位 の 種 類 博士（獣医学）

学位授与の条件 酪農学園大学学位規程第3条第3項に該当

学位論文の題目 カニクイザル (*Macaca fascicularis*) における新たな筋肉内注射麻酔
法の開発

審 査 委 員

主査 教 授 山下 和人（獣医麻酔学）

副査 教 授 北澤多喜雄（獣医薬理学）

副査 教 授 大杉 剛生（実験動物学）

副査 准教授 佐野 忠士（獣医麻酔学）

副査 准教授 伊丹 貴晴（獣医麻酔学）

学位論文要旨

カニクイザル(*Macaca fascicularis*)における新たな筋肉内注射麻酔法の開発

酪農学園大学大学院獣医学研究

獣医学専攻博士課程

獣医麻酔学 和田 聡

カニクイザルはヒトと生理機能が類似しており、医薬品研究開発にて非常に有用な実験動物である。実験動物のサル類の鎮静不動化には、飼育ケージの外側から注射麻酔薬を筋肉内(IM)投与する方法が一般的に用いられている。アルファキサロンは組織傷害性が少ないステロイド系注射麻酔薬であり、2- α -ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン(HPCD)と包接体としたアルファキサロン-HPCD製剤が開発され、多くの動物種でIM投与による鎮静・麻酔効果が報告されている。獣医臨床では、麻酔の安全性と有効性を高めるために、マルチモーダル鎮痛とバランス麻酔の概念が積極的に取り入れられている。本研究では健康なカニクイザル 12 頭(雄, 年齢 4-7 歳, 体重 3.8-6.2 kg)を用い、まず、第一章でアルファキサロン-HPCD を単独 IM 投与した際の鎮静・麻酔作用および呼吸循環系機能への影響を評価した。続いて、第二章ではバランス麻酔としてメドミジンとアルファキサロン-HPCD を併用 IM 投与した際の鎮静・麻酔作用および呼吸循環系機能に与える影響を評価した。最後に、第三章ではバランス麻酔とマルチモーダル鎮痛の概念を取り入れてメドミジン、ブトルファノールおよびアルファキサロン-HPCD を併用 IM 投与した MBA 麻酔の鎮静・麻酔作用および呼吸循環系機能に与える影響を評価した。

第一章では、供試猿にアルファキサロン-HPCD を 6 用量(0.625, 1.25, 2.5, 5, 7.5 および 10 mg/kg)および生理食塩水を 4 日間以上の休薬期間で単独 IM 投与し、6 頭で鎮静・麻酔効果を評価し、別の 6 頭で呼吸循環系機能を評価した。アルファキサロン-HPCD 5, 7.5 および 10 mg/kg IM によってすべての供試猿が横臥に至る鎮静不動化を認め、不動化持続時間の中央値(四分位範囲)はそれぞれ 27.5 分間(19.0-33.8)、56 分間(42.3-60.8)および 74.5 分間(62.8-78.0)と用量依存性に延長した。気管挿管はアルファキサロン-HPCD 7.5 および 10 mg/kg を IM 投与した供試猿のすべてで実施可能であった。薬液 IM 投与後の呼吸循環系機能はアルファキサロン-HPCD の用量依存性に抑制を認め、アルファキサロン-HPCD 5~10 mg/kg の IM 投与で低酸素血症および低体温を認め、7.5 および 10 mg/kg の IM 投与で血圧低下を認めた。

第二章では、アルファキサロン-HPCD の 2 用量(1.25, 2.5 mg/kg)とメドミジン 30 μ g/kg の混合液(薬液量 0.155, 0.28 mL/kg)およびケタミン 10 mg/kg(薬液量 0.2 mL/kg)を供試猿に 4 日間以上の

休薬期間で IM 投与し、6 頭で鎮静・麻酔効果を評価し、別の 6 頭で呼吸循環系機能を評価した。アルファキサロン-HPCD 1.25 mg/kg とメデトミジン 30 µg/kg の併用 IM 投与によって横臥したのは 1 頭のみであったが、ケタミン 10 mg/kg の IM 投与またはアルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg とメデトミジン 30 µg/kg の併用 IM 投与によって 6 頭すべての供試猿に気管挿管可能な麻酔効果を得られた。アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg とメデトミジン 30 µg/kg の併用 IM 投与では、ケタミン 10 mg/kg の IM 投与に比べて高い鎮静・麻酔スコアで推移した。不動化持続時間の中央値(四分位範囲)は、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg とメデトミジン 30 µg/kg の併用 IM 投与で 40 分間(36.0-41.8)およびケタミン 10 mg/kg の併用 IM 投与で 20 分間(16.3-26.0)であった。アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg とメデトミジン 30 µg/kg の併用 IM 投与では、低酸素血症および低体温を認め、心拍数と血圧には投与後 120 分まで延長した低下を認めた。

第三章では、アルファキサロン-HPCD の 3 用量(0.625, 1.25, 2.5 mg/kg)、メデトミジン 30 µg/kg およびブトルファノール 0.2 mg/kg の混合液(薬液量 0.1325, 0.195, 0.32 mL/kg)を供試猿に 4 日間以上の休薬期間で IM 投与し、6 頭で鎮静・麻酔効果を評価し、別の 6 頭で呼吸循環系機能を評価した。MBA 麻酔法のアルファキサロン-HPCD 3 用量のいずれにおいても 6 頭すべての供試猿に気管挿管可能な麻酔効果を得られた。MBA 麻酔法の不動化持続時間はアルファキサロン-HPCD 用量依存性に延長し、その中央値(四分位範囲)は、アルファキサロン-HPCD 0.625 mg/kg を用いた MBA 麻酔法で 40 分間(35.3-46.3)、アルファキサロン-HPCD 1.25 mg/kg を用いた MBA 麻酔法では 69 分間(52.0-87.5)、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg を用いた MBA 麻酔法では 88 分間(77.5- 95.5)であった。MBA 麻酔法ではアルファキサロン-HPCD の用量依存性に呼吸循環系機能抑制を認め、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg を用いた MBA 麻酔法では低血圧、低酸素血症および低体温を認めた。

以上のことから、健康なカニクイザルでは、アルファキサロン-HPCD 7.5 mg/kg 単独 IM 投与、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg とメデトミジン 30 µg/kg 併用 IM 投与およびメデトミジン 30 µg/kg、ブトルファノール 0.2 mg/kg およびアルファキサロン-HPCD 0.625 または 1.25 mg/kg を併用 IM 投与する MBA 麻酔法によって、気管挿管可能な麻酔効果を軽度～許容範囲の循環抑制で得られた。本研究によって開発された MBA 麻酔法は、その麻酔効果と動物福祉の観点からカニクイザルを用いた動物実験に有用であり、医薬品の研究開発に大きく貢献すると期待される。

論文審査の要旨および結果

1 論文審査の要旨および結果

審査は、1) 体裁を整え、新規性があり、明確に十分な根拠があるか、2) 科学および獣医学の発展に寄与する内容であるかの2点を重点に行われた。

論文の概要について

和田氏は、実験動物であるカニクイザルを対象にステロイド系注射麻酔薬のアルファキサロンの筋肉内投与（IM）による鎮静麻酔効果と呼吸循環系機能に与える影響を明らかにした。さらに、アルファキサロンに $\alpha 2$ -アドレナリン受容体作動薬のメデトミジンと非麻薬性オピオイドのブトルファノールをIMで併用してバランス麻酔とマルチモーダル鎮痛の概念を取り入れたカニクイザルにおける新たな筋肉内注射麻酔法を考案し、その鎮静麻酔作用および呼吸循環系機能に与える影響を明らかにした。

研究の背景と目的

カニクイザルはヒトと生理機能が類似しており、医薬品の研究開発において非常に有用な実験動物である。実験動物のサル類の鎮静不動化には、飼育ケージの外側から注射麻酔薬をIMする方法が一般的に用いられている。ステロイド系注射麻酔薬のアルファキサロンでは2- α -ヒドロキシプロピル β -シクロデキストリン（HPCD）を包接体として水溶性を高めたアルファキサロン-HPCD製剤が開発され、多くの動物種でIMによる鎮静麻酔効果が報告されている。また、犬猫やウサギでは作用機序の異なる複数の鎮痛薬を併用して、少ない副作用で強い鎮痛効果を得るマルチモーダル鎮痛の概念と、全身麻酔の三要素（意識消失・鎮痛・筋弛緩）を個々の要素を持つ薬物の組み合わせで達成するバランス麻酔の概念を取り入れ、アルファキサロン-HPCDに $\alpha 2$ -アドレナリン受容体作動薬のメデトミジンと非麻薬性オピオイドのブトルファノールを併用することで動物福祉に配慮したIM体積で鎮静麻酔効果を得られることが報告されている。

和田氏は、カニクイザルを対象としてアルファキサロン-HPCDのIMによる鎮静麻酔効果を明らかにするとともに、バランス麻酔とマルチモーダル鎮痛の概念を取り入れた新たな筋肉内注射麻酔法としてメデトミジン、ブトルファノールおよびアルファキサロン-HPCDの併用IMによるMBA麻酔法を開発することを本研究の目的とした。

研究の成果

和田氏は、本研究を第一章～第三章の基礎的検討で構成し、健康な雄のカニクイザル12頭（年齢4～7歳、体重3.8～6.2 kg）を使用してアルファキサロン-HPCD 7.5 mg/kg 単独IM（薬液量0.75 mL/kg）、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg-メデトミジン 30 μ g/kg 併用IM（薬液量0.28 mL/kg）、およびメデトミジン 30 μ g/kg-ブトルファノール 0.2 mg/kg-アルファキサロン-HPCD 0.625 または 1.25 mg/kg 併用IMによるMBA麻酔法（薬液量0.1325 または 0.195 mL/kg）によって気管挿管可能な麻酔効果を軽度～許容範囲の循環抑制で得られることを明らかにした。具体的な成績は以下の通りであった。

第一章では、供試猿にアルファキサロン-HPCD を 6 用量 (0.625, 1.25, 2.5, 5, 7.5 および 10 mg/kg) および生理食塩液を 4 日間以上の休薬期間で単独 IM し、6 頭で鎮静・麻酔効果および別の 6 頭で呼吸循環系機能を評価した。アルファキサロン-HPCD 5~10 mg/kg IM によってすべての供試猿が横臥に至る鎮静不動化を認め、不動化持続時間の中央値 (四分位範囲) は 27.5 分間 (19.0-33.8)、56 分間 (42.3-60.8) および 74.5 分間 (62.8-78.0) と用量依存性に延長した。気管挿管はアルファキサロン-HPCD 7.5 および 10 mg/kg IM ですべての供試猿に実施可能であった。アルファキサロン-HPCD の用量依存性に呼吸循環系機能の抑制を認め、アルファキサロン-HPCD 5~10 mg/kg IM で低酸素血症および低体温を認め、7.5 および 10 mg/kg の IM 投与で血圧低下を認めた。

第二章では、アルファキサロン-HPCD の 2 用量 (1.25 および 2.5 mg/kg) とメデトミジン 30 μ g/kg の混合液 (薬液量 0.155 および 0.28 mL/kg) およびケタミン 10 mg/kg (薬液量 0.2 mL/kg) を供試猿に 4 日間以上の休薬期間で IM し、6 頭で鎮静・麻酔効果および別の 6 頭で呼吸循環系機能を評価した。アルファキサロン-HPCD 1.25 mg/kg とメデトミジン 30 μ g/kg の併用 IM で横臥したのは 1 頭のみであったが、ケタミン 10 mg/kg IM またはアルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg とメデトミジン 30 μ g/kg の併用 IM によってすべての供試猿に気管挿管可能な麻酔効果を得られた。アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg とメデトミジン 30 μ g/kg の併用 IM では、ケタミン 10 mg/kg IM に比べて高い鎮静・麻酔スコアで推移した。不動化持続時間の中央値 (四分位範囲) は、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg とメデトミジン 30 μ g/kg の併用 IM で 40 分間 (36.0-41.8) およびケタミン 10 mg/kg IM 投与で 20 分間 (16.3-26.0) であった。アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg とメデトミジン 30 μ g/kg の併用 IM 投与では、低酸素血症および低体温を認め、心拍数と血圧には投与後 120 分まで延長した低下を認めた。

第三章では、アルファキサロン-HPCD の 3 用量 (0.625, 1.25 および 2.5 mg/kg)、メデトミジン 30 μ g/kg およびブトルファノール 0.2 mg/kg の混合液 (薬液量 0.1325, 0.195 および 0.32 mL/kg) を 4 日間以上の休薬期間で供試猿に IM し、6 頭で鎮静・麻酔効果および別の 6 頭で呼吸循環系機能を評価した。MBA 麻酔法のアルファキサロン-HPCD 3 用量のいずれにおいても 6 頭すべての供試猿に気管挿管可能な麻酔効果を得られた。MBA 麻酔法の不動化持続時間はアルファキサロン-HPCD 用量依存性に延長し、その中央値 (四分位範囲) は、アルファキサロン-HPCD 0.625 mg/kg を用いた MBA 麻酔法で 40 分間 (35.3-46.3)、アルファキサロン-HPCD 1.25 mg/kg を用いた MBA 麻酔法では 69 分間 (52.0-87.5)、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg を用いた MBA 麻酔法では 88 分間 (77.5-95.5) であった。MBA 麻酔法ではアルファキサロン-HPCD の用量依存性に呼吸循環系機能抑制を認め、アルファキサロン-HPCD 2.5 mg/kg を用いた MBA 麻酔法では低酸素血症、低体温および低血圧を認めた。

研究の評価

和田氏は、動物用医薬品として入手可能なメデトミジン、ブトルファノールおよびアルファキサロン-HPCD を併用し、バランス麻酔とマルチモーダル鎮痛の概念を取り入れて鎮痛効果を付加するとともに動物福祉に配慮した推奨 IM 体積 (0.25mL/kg) より少ない薬液量で気管挿管可能な麻酔効果を得られる MBA 麻酔法を開発した。和田氏が開発した MBA 麻

酔法は、その麻酔効果と動物福祉の観点からカニクイザルを用いた動物実験に有用であり、医薬品の研究開発に大きく貢献すると期待される。

学位論文の一部を公表した論文

Sou WADA, Hironari KOYAMA and Kazuto YAMASHITA. 2020. Sedative and physiological effects of alfaxalone intramuscular administration in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). J Vet Med Sci. 82: 1021-1029.

以上のことから、和田 聡 氏は博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有すると審査員一同は認めた。

2 最終試験の結果

審査委員 5 名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2021 年 9 月 10 日

審査委員

主査	教 授	山下	和人
副査	教 授	北澤	多喜雄
副査	教 授	大杉	剛生
副査	准教授	佐野	忠士
副査	准教授	伊丹	貴晴